

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平4-148669

⑤ Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成4年(1992)5月21日

C 12 M 1/00

A 9050-4B

G 01 N 1/28

J 7708-2J

// G 01 N 27/447

7235-2J G 01 N 27/26 3 0 1 Z

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全3頁)

⑭ 発明の名称 分子固定装置

⑮ 特 願 平2-269577

⑯ 出 願 平2(1990)10月9日

⑰ 発 明 者 増 田 閃 一 東京都北区西ヶ原3-2-1-415

⑱ 発 明 者 鷲 津 正 夫 東京都杉並区和田2-32-12

⑲ 発 明 者 黒 沢 修 東京都府中市新町1-57-1 昭栄荘106号

⑳ 出 願 人 株式会社アドバンス 東京都中央区日本橋小舟町5番7号

PTO 2000-1149

S.T.I.C. Translations Branch

日 月 年 日 時 分 秒

1. 特許の名称

分子固定装置

2. 特許請求の範囲

(1) 基板上に設けられた電極を用いて溶液中の鎖状高分子を静電的に配向・伸長させる為の配向・伸長手段、分子を伸長した状態で基板上あるいは電極上に固定する為の固定手段よりなることを特徴とする分子固定装置。

(2) 前記固定手段が、溶液の流れにより分子を基板あるいは電極上に付着させ固定する手段であることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の分子固定装置。

(3) 前記固定手段が、溶液を加熱することにより分子を基板あるいは電極上に付着させ固定する手段であることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の分子固定装置。

(4) 前記固定手段が、紫外線・可視光線・赤外線・

電磁波を照射することにより分子を基板あるいは電極上に付着させ固定する手段であることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の分子固定装置。

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明はデオキシリボ核酸(DNA)やタンパクなどの細長い高分子(鎖状高分子)を伸長して面上に固定する手段に関する。

[従来の技術と問題点]

従来、デオキシリボ核酸(DNA)の塩基配列の決定には、ゲル電気泳動が広汎に用いられてきたが、この手法は多数のDNA分子を様々な位置で切断しこれを寒天やアクリルアミドゲルなどの担体の上で泳動させることにより塩基配列の決定を行うので①時間がかかる②手間が煩雑である③多数のDNAが必要とされるなどの欠点を有していた。これに対し、原子レベルの分解能を持つ定置トンネル

顕微鏡(Scanning Tunneling Microscope, STM)や原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope)などを用いれば一本のDNAから簡便にしかも短時間で塩基配列を直接読み出すことができることは、容易に推考される。しかしながら塩基配列を順次読み出すためには、対象となるDNAが直線状またはそれに近い形で引き伸ばされていることが必要になる。また、タンパクのアミノ酸配列の推定も類似の手法が用いられてきたが、これも走査トンネル顕微鏡で直接読もうとすれば、分子が一次元状に伸長されていることが望ましい。

[発明の目的]

本発明の目的は、このような鎖状高分子を引き伸ばして面上に固定する手段を提供することにある。

[問題点を解決するための手段]

静電力により溶液中のDNAなどの鎖状高分子を伸長することができることは、公知である。(駕津、黒澤、静電気学会講演論文集

89.10, P173~176)しかしながら、このような手段で溶液中で伸長された分子は、静電力を作り出している電界を切ると、熱運動によりランダムコイル状に丸まってしまう。

一般に、分子を引き伸ばすほどの高電界の下では走査トンネル顕微鏡を動作させることはできないので、走査トンネル顕微鏡での観察を行うためには、引き伸ばした分子のある面の上に固定して、電界を切っても伸長した状態が保存されるようにすることが必要となる。

多くの生体高分子は、その持つ極性基や解離基のため、金属・ガラスなどに密着させるところに付着する。従って上記のように静電力で配向した分子は、溶液の流れにより基板・電極に押し付けて固定することができる。この溶液の流れを作るには、外力を加えるほかに、溶液の加熱による対流を利用することができる。

溶液の加熱方法には、溶液中の電極に電流

を流し、電極自体を発熱させることによって溶液を加熱する直接的加熱法、又は、外部発熱体によって溶液を加熱する間接的加熱法がある。

また、付着性を増すためには、分子の持つ電荷を増やすことが有効である。このためには加熱した温度を上げる、紫外線・可視光線・赤外線・電磁波などの照射を行い解離基の解離を促進するなどの手段が有効となる。[発明の実施例]

第1図乃至第2図は、本発明の実施例である。この実施例では、ガラス基板上に設けられた図に示されるような形状を持つ電極1、2を用いている。電極1、2の材質は例えばアルミニウムが使用されている。しかしながら、これに限られるものではない。まずガラス基板7とカバーガラス6の間にDNAなど固定したい鎖状高分子の溶液を導入し、リード線3および4を通じて電極1と電極2の間に1[MHz] 10^4 [V/m]程度の電界を印加す

る。すると分子は静電力により電界と平行になるよう直線状に引き伸ばされ、かつ誘電泳動の効果により電極エッジへと引き寄せられる。その結果として分子の一方の端を電極に接し他端を電極と垂直に伸ばした形状で配向される。もちろん、電界を切るところの形状は崩れ、分子は伸長される前のランダムコイル状の形状に戻ってしまう。そこで、電界を切らず印加したままの状態でもリード線3および4を通じて電極1の中に電流を通じ、このジュール熱により溶液を加熱させる。ここで電極1に流す電流とは、例えば0.7(A)程度でコンマ数秒程度のものを断続的に通電することを示すものである。しかし、これに限られるものではない。急激に加熱するなど加熱の条件をうまく選択するとこの熱により溶液の対流が起こり、電極1と2の間に配列した分子はその位置で伸長したまま基板4に付着し、ここに固定される(第1図の8)。このように固定された分子は、電界を切っても伸

長したままの状態を保存する。また、対流の向きによっては電極1と2の間で伸長・配向した分子を電極エッジを軸として反転し、電極上に付着・固定することもできる(第1図の9)。これもまた電界を切っても伸長したままの状態を保存する。さらに上記の操作を紫外線照射下で行うことにより、分子の解離基の解離を促進し、付着しやすくすることも可能である。

このようにすれば、基板あるいは電極の上に伸長した形状で分子を固定することができ、さらにカバーガラス6を取り去れば、この伸長された分子に関する情報を走査トンネル顕微鏡で逐次読み出すことが可能になる。

尚、電極1と電極2間に電界を印加する装置、並びに電極1に電流を流す為の装置は省略した。

[発明の効果]

本発明によれば鎖状高分子を伸長した状態で固定することができるので、走査トンネル

顕微鏡などによる分子情報の読み出しを行うことが可能になる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明の実施例を示す図である。第

2図は第1図の側面を示す図である。

1～2：電極

3～5：リード線

6：カバーガラス

7：ガラス基板

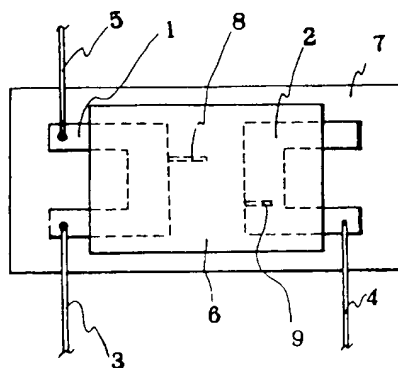
8：ガラス基板上に固定された鎖状分子

9：電極上に固定された鎖状分子

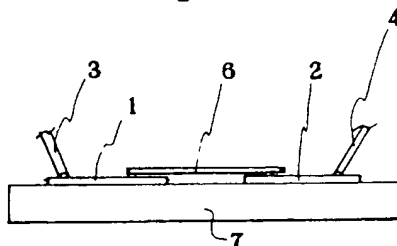
特許出願人

株式会社アドバンス

第1図



第2図



PTO: 2000-1149

Japanese Published Unexamined Patent Application (A) No. 04-148669; Published May 21, 1992; Application No. 02-269577, Filed October 9, 1990; Japanese Title: Molecule Securing Devices

MOLECULE SECURING DEVICES

CLAIM(S)

1) A molecule securing device comprising: a means to electrostatically orient and extend macro molecules in chain form in a solution by using an electrode installed on a substrate; a securing means to secure the molecules onto the substrate or the electrode while they are oriented and extended.

2) A molecule securing device, as mentioned in Claim 1, wherein said securing means is a means to attach and secure the molecules onto the electrode or substrate by using the flow of the solution.

3) A molecule securing device, as mentioned in Claim 1, wherein said securing means is a means to attach and secure the molecules onto the substrate or electrode by heating the solution.

4) A molecule securing device, as mentioned in Claim 1, wherein said securing means is a means to attach and secure the molecules onto the substrate or electrode by radiating ultraviolet ray, visible ray, infrared ray, or electromagnetic wave.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

(Field of Industrial Application)

The present invention pertains to a means to extend elongated macro molecules, such as DNA or protein, and secure them on a surface.

(Problems of the Prior Art to Be Addressed)

In the prior art method to determine a base sequence of DNA, gel electrophoresis has been widely used. In this method, multiple DNA molecules are cut at various positions, and they are made to migrate on a medium, such as an agarose or acrylamide gel to determine the base sequence; therefore the method comes with the following problems: 1) it takes too much time; 2) it requires tedious process; 3) it requires a large quantity of DNAs. On the other hand, it can be easily assumed if the base sequence can be directly read from one sequence of DNA quickly if a scanning tunneling microscope (STM) having atomic level resolution or atomic force microscope is used. However, in order to successively read the base sequence, the DNA to be read needs to be in linear form or be extended in near linear form. For the amino acid sequence of protein, the similar method has been used, but the molecules desirably need to be extended in one dimensional form so it can be read directly by an STM.

(Objective of the Invention)

The objective of the present invention is to present a means to extend and

secure such a chain of macro molecules on a surface.

(Means to Solve the Problems)

It is publicly known that a chain of macro molecules, such as DNA, can be extended in a solution by static electricity (Collection of Theses by Academic Society of Static Electricity, 89. 10, pp. 173-176). However, the molecules extended in the solution by such a means forms a random coil shape by thermal movement when an electrical field generating the static electricity is shut down.

Generally, when the molecules are extended, the STM cannot be operated under a high electrical field. Therefore, in order to examine it by an STM, the extended molecules need to be secured to a surface so that the extended status remains when the electrical field is cut off.

Most biological macro molecules attach to a metal or glass due to their polar base or dissociation base. Accordingly, the molecules oriented by means of static electricity can be secured to the substrate electrode by pressing them against it by flow of the solution. To generate the solution flow, an external force is provided and a convection may be generated by heating the solution.

Among the solution heating methods, there is a method whereby a current is made to flow to the electrode in the solution to generate the heat from the electrode to heat the solution directly. And there is a method whereby the solution can be indirectly heated by external heating.

To enhance the adhesion, it is effective to increase the electron charge of molecules. For this purpose, the heating temperature can be raised, or ultraviolet ray, visible ray, infrared ray, or electromagnetic wave can be radiated to accelerate the dissociation of the dissociating base.

(Embodiment)

Fig. 1 and Fig. 2 show the embodiment example of the present invention. In this embodiment example, electrodes 1 and 2 installed on the glass substrate are used as shown in the figures. For the material of the electrodes 1 and 2, e.g., aluminum is used. But the material is not limited to the aluminum. First, between the electrode 1 and the electrode 2, approximately $1[\text{MH}_2] \cdot 10^3[\text{V/m}]$ of electrical field is charged via the leads 3 and 4. Then, the molecules are extended into a linear form parallel to the electrical field by static electricity, and are attracted to the electrode edge by an electrophoresis effect. As a result, one end of the molecule is brought into contact with the electrode and the other end is extended perpendicularly to the electrode in orientation. But this configuration is destroyed when the electric field is cut off, and the molecules resume a shape of a random coil, which is the shape before extended. So, a current is supplied into the electrode 1 via the leads 3 and 5 without cutting off the electric field, and the solution is heated by using this Joule heat. As to the current supplied to the electrode 1, approximately 0.7 (A) of current is intermittently supplied for some second. But it is not limited

only to this level of current. If the conditions for heating are properly selected, e.g., heating drastically, a convection occurs due to the solution, and the molecules lined up between the electrode 1 and the electrode 2 are attached to the substrate while extended in the same position and are secured (8 in Fig. 1). The molecules thus secured retain the extended status even when the electric field is cut off. Depending on the convection direction, the molecules extended and oriented between the electrode 1 and the electrode 2 are inverted on the axis of the electrode edge and can be secured onto the electrode (9 in Fig. 1). These molecules retain the extended shape even if the electric field is cut off. By performing the above operation under the ultraviolet radiation, the dissociation of the molecules are accelerated, and the molecules are easily attached.

Thus, the molecules can be secured while they are extended on the substrate or electrode. In addition, if the cover glass 6 is removed, the data regarding the extended molecules can be successively read out by an STM.

The device for charging an electric field between the electrode 1 and the electrode 2 and the device for supplying a current into the electrode 1 are omitted from the figure.

(Advantage)

By the present invention, the molecules extended in chain form can be secured, so the molecule information can be read out by an STM.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Fig. 1 shows the embodiment example of the present invention. Fig. 2 shows its side view.

1-2. Electrodes

3-5. Leads

6. Cover glass

7. Glass substrate

8. Molecules in chain form secured onto the glass substrate

9. Molecules in chain form secured onto the electrode.

Translations

U.S. Patent and Trademark Office

12/30/99

Akiko Smith